

**РАЗЛИЧИЯ В ПРЕНАТАЛЬНОМ ВЛИЯНИИ
ФЛУОКСЕТИНА И БУСПИРОНА
НА АДАПТИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ МОЛОДЫХ КРЫС**

© И. П. Буткевич, В. А. Михайленко

Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия
E-mail: irinabutkevich@yandex.ru

Проведен сравнительный анализ влияния селективного ингибитора обратного захвата серотонина (5-НТ) флуоксетина и агониста 5-НТ1А-рецепторов буспилона, инъекционных самкам крыс с 9-х по 20-е сутки гестации, на болевую чувствительность, реактивность болевой системы в ответ на воспалительный агент и тревожно-депрессивное поведение потомства обоего пола. Обнаружено антиноцицептивное влияние инъекционных препаратов в отличие от проноцицептивного влияния инъекции физиологического раствора. Антидепрессивное свойство флуоксетина и анксиолитическое свойство буспилона не проявились у потомства обоего пола в препубертатный период развития. Флуоксетин повысил тревожность в тесте приподнятого крестообразного лабиринта у женского потомства, обнаружив анксиогенный эффект. Буспирон уменьшил показатель депрессивноподобного поведения в тесте принудительного плавания у потомства обоего пола, проявив свойства антидепрессанта. Обнаруженные различия в пренатальном влиянии препаратов на адаптивное поведение будут способствовать дальнейшему изучению механизмов долговременного действия буспилона и флуоксетина.

Ключевые слова: флуоксетин, буспирон, 5-НТ1А-рецептор, гестация, препубертатный период, ноцицептивная система, поведение.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 4. С. 440—451. 2018

I. P. Butkevich, V. A. Mikhailenko. DIFFERENCES IN THE PRENATAL INFLUENCE OF FLUOXETINE AND BUSPIRONE ON REACTION PAIN SYSTEM AND THE BEHAVIOR OF YOUNG RATS. I. P. Pavlov Institute of Physiology of the RAS, St. Petersburg, Russia, e-mail: irinabutkevich@yandex.ru

A comparative analysis was made of the influence of a selective serotonin (5-HT) inhibitor of fluoxetine and 5-HT1A receptor agonist buspirone injected into rat dams from the 9th to the 20th day of gestation on the pain sensitivity, reactivity of the pain system in response to an inflammatory agent, and anxiety-depressive behavior of offspring of both sexes. An antinociceptive effect of injected drugs was found, in contrast to the pronociceptive effect of injection of saline. The antidepressant property of fluoxetine and anxiolytic property of buspirone did not appear in the offspring of both sexes in the prepubertal period of development. Fluoxetine increased anxiety in the test of an elevated cross-maze labyrinth in female offspring, revealing an anxiogenic effect. Buspirone reduced the index of depressive behavior in the forced swim test in offspring of both sexes, showing the properties of the antidepressant. The differences in the prenatal effect of drugs on

adaptive behavior will contribute to further research on the mechanisms of long-term action of buspirone and fluoxetine.

Key words: fluoxetine, buspirone, 5-HT_{1A} receptor, gestation, prepubertal period, nociceptive system, behavior.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 4. P. 440—451. 2018

Буспирон, агонист 5-HT_{1A}-рецептора, используемый в клинике в качестве анксиолитика для подавления тревожных состояний, и флуоксетин, селективный ингибитор обратного захвата 5-НТ, широко применяемый для лечения депрессии в период беременности, осуществляют свое действие через 5-HT_{1A}-рецептор [4, 37] и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему (ГГНС) [7, 11, 32]. Серотонинергический рецептор типа 1A (5-HT_{1A}-рецептор) широко распространен в мозге млекопитающих и вовлечен в регуляторную функцию серотонина (5-НТ) в период раннего развития [9, 33], в разные типы поведения, ноцицепцию, ответы на стресс [13, 27] и является мишенью для транквилизаторов и антидепрессантов, применяемых для лечения тревожных и депрессивных состояний [4, 34]. Экспрессия 5-HT_{1A}-рецептора возникает во время ранней стадии эмбрионального развития [31], поэтому изменения в 5-НТ-ергической системе в пренатальном периоде имеют важное значение для развития адаптивного поведения и психоэмоциональной сферы в течение всей жизни. Серотонинергическая система и ГГНС тесно взаимосвязаны, нарушение этой взаимосвязи лежит в основе развития депрессивных состояний [3].

Буспирон является полным агонистом пресинаптических 5-HT_{1A}-ауторецепторов, через которые по механизму обратной связи он регулирует освобождение 5-НТ из пресинаптических нервных окончаний и интенсивность возбуждения нейронов. Будучи частичным агонистом постсинаптических 5-HT_{1A}-гетерорецепторов в гиппокампе, гипоталамусе, таламусе, амигдале и префронтальной коре [4], буспирон регулирует психоэмоциональное поведение, нейроэндокринную функцию. Роль пре- и постсинаптических 5-HT_{1A}-рецепторов в возникновении тревожного и депрессивного состояний окончательно не выяснена, несмотря на значительный прогресс, достигнутый с открытием транскрипционных факторов, регулирующих экспрессию гена 5-HT_{1A}-рецептора, и с использованием животных с генетическими модификациями [4, 12, 33, 35]. Одноразовая инъекция буспилона вызывает активацию 5-HT_{1A}-ауторецепторов, приводящую к торможению секреции 5-НТ-нейронами в ядре шва и торможению его синтеза. Хроническое введение буспилона приводит к прогрессивной десенситизации соматодендритических 5-HT_{1A}-ауторецепторов, поэтому торможение 5-НТ-ергической активности со временем уменьшается [4, 12]. Пренатальное влияние буспилона на поведение в постнатальном онтогенезе и на развитие 5-НТ-ергической системы исследовали только на животных [10, 20].

Классический антидепрессант флуоксетин широко применяется для лечения депрессии в период беременности [19]. Флуоксетин проникает через плацентарный барьер и, ингибируя обратный захват 5-НТ, увеличивает уровень 5-НТ в интерстициальной жидкости головного мозга плода [15]. В литературе сообщается о неблагоприятном влиянии флуоксетина на развивающийся организм [17, 19, 29]. На подростках и в экспериментальных условиях на животных получены данные, свидетельствующие о том, что флуоксетин в перинатальный период развития вызывает повышенный риск развития нейрососудистых расстройств, тревожно-депрессивных состояний, деструктивных процессов в ряде структур головного мозга, в то время как данные других исследователей

не подтверждают этих фактов [17, 29]. В исследованиях оказываются часто смешанными последствия материнской психопатологии и влияние вводимых препаратов. Остается неясным, какой из двух факторов вызывает больший риск для потомства. Точный механизм долговременного пренатального эффекта флуоксетина и буспилона на поведение не выяснен.

В ряде работ обнаружен половой диморфизм в пренатальном влиянии флуоксетина на поведение [25, 32]. Результаты исследования пренатального влияния препаратов на адаптивное поведение у разнополых особей во время постнатального развития способствуют познанию механизмов долговременного влияния антидепрессантов и транквилизаторов. Принимая во внимание повышенный интерес в настоящее время к комбинированному использованию флуоксетина и агонистов 5-HT_{1A}-рецептора как более эффективному средству для лечения депрессий [4, 28], мы исследовали на первом этапе влияние введения каждого препарата в отдельности здоровым беременным самкам крыс, не подвергнутым депрессивному состоянию, на поведение потомство. Цель работы заключалась в сравнении влияния хронических инъекций флуоксетина и буспилона беременным самкам крыс на болевую чувствительность, реактивность тонической болевой системы и тревожно-депрессивное поведение у потомства обоего пола в препубертатный период развития.

МЕТОДИКА

Исследование проведено на потомстве крыс линии Вистар из биокolleкции «Коллекция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности» Института физиологии им. И. П. Павлова РАН, поддержанной программой биоресурсных коллекций ФАНО России (Санкт-Петербург). Подсадку половозрелых 1 самца и 3 самок осуществляли в виварии лаборатории. Наличие сперматозоидов во влагалищном мазке на утро после подсадки принимали, как и в день рождения потомства, за нулевой день. С 9-х сут по 20-е сутки беременности самок первой ($n = 17$) и второй ($n = 14$) групп подвергали ежедневным инъекциям (1 мл внутривентриально) флуоксетина (10 мг/кг, Sigma) и буспилона (3.5 мг/кг, Sigma) соответственно, крыс третьей группы — равному объему физиологического раствора ($n = 14$). Крысы четвертой группы оставались без всяких воздействий (интактные, $n = 11$). Доза флуоксетина была выбрана на основании данных литературы [21], доза буспилона — на основании наших данных и данных литературы. Беременные самки были помещены по 4 особи в стандартные пластмассовые клетки и находились в виварии лаборатории в стандартных условиях при свободном доступе к пище и воде, в условиях естественного цикла день—ночь (12:00—12:00, включение света в 8 ч, выключение в 20 ч). За двое суток до родов самок рассаживали по одной особи в клетку. После рождения потомства на следующие сутки крысят взвешивали, помет сокращали до 8 особей. В работе были использованы самцы ($n = 14, 16, 13, 9$) и самки ($n = 20, 11, 13, 12$) — потомство матерей первой, второй, третьей и четвертой групп соответственно.

При достижении препубертатного периода развития у животных исследовали болевую чувствительность в тесте горячей пластины, определяли массу тела и маркировали животных. На следующие сутки оценивали двухфазный ответ в формалиновом тесте на инъекцию 1.0 мкл 2.5%-ного раствора формалина в подошву левой задней конечности. Затем с интервалом в 3 дня оценивали уровень тревожности в приподнятом крестообразном лабиринте, уро-

вень выраженности депрессивноподобного поведения в тесте вынужденного плавания. Все эксперименты проводили с 09:00 до 14:00 ч. Экспериментаторам не было известно о группах животных. Подробное описание проведения экспериментов во всех тестах нами было представлено в предыдущих работах [1, 2].

Болевую чувствительность оценивали в тесте горячей пластины (температура 55 °С), регистрируя латентный период реакции отряхивания задней конечности (с) в ответ на термический раздражитель. Реактивность ноцицептивной системы в ответ на воспалительный агент оценивали в формалиновом тесте [10]. Крысят по одному помещали в прозрачную камеру и регистрировали в течение 60 мин число паттернов сгибания + встряхивания и продолжительность реакции вылизывания (с), которые характеризуют интенсивность болевого ответа. Анализировали число сгибаний+встряхиваний и продолжительность вылизывания (с) в первую острую и вторую тоническую фазы ответа. Уровень тревожности регистрировали в приподнятом крестообразном лабиринте; в течение 5 мин регистрировали время пребывания в открытых рукавах, число реакций свешивания с открытых рукавов и число пересеченных квадратов — показатели обратно пропорциональные уровню тревожности. Уровень выраженности депрессивноподобного поведения оценивали в тесте принудительного плавания. Крысу помещали в сосуд с водой (диаметр 25 см, высота 60 см, температура воды 25—27 °С) и в течение 5 мин регистрировали время, в течение которого крыса находилась в неподвижном состоянии (время иммобильности — показатель депрессивноподобного поведения). Также регистрировали время плавания и время движений по стенке сосуда. Поведение животных в каждом тесте регистрировали с помощью видеокамеры. Все процедуры работы с животными выполнены с соблюдением «Правил и норм гуманного обращения с объектами исследования» [38]. Протоколы опытов утверждены комиссией по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И. П. Павлова РАН.

Статистический анализ проводили с использованием непараметрического критерия Манна—Уитни и критерия Стьюдента и дисперсионного анализа с использованием пакета программ SPSS Inc. Данные представлены в виде среднего \pm стандартная ошибка. Принятый уровень значимости составлял 5 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Инъекция беременным самкам крыс буспирона и флуоксетина вызывает анксиолитический эффект; после введения физиологического раствора у самок повышается двигательная активность, они пребывают в бодрствующем состоянии. Хроническое введение флуоксетина матери в период гестации вызвало у новорожденных крысят обоего пола снижение массы тела по сравнению с массой тела крысят, рожденных матерями с инъекцией физиологического раствора, и массой тела интактных животных ($p < 0.05$ в обоих случаях). Буспирон не вызвал достоверных изменений в массе тела новорожденных крысят (рис. 1, А). При достижении 25-дневного возраста масса тела самцов с пренатальным введением флуоксетина оставалась ниже, чем у самцов с пренатальным введением физиологического раствора и у интактных самцов ($p < 0.05$ в обоих случаях), тогда как у самок в исследованных группах различий в массе тела выявлено не было. Масса тела интактных самцов была больше массы тела интактных самок ($p < 0.05$) (рис. 1, Б).

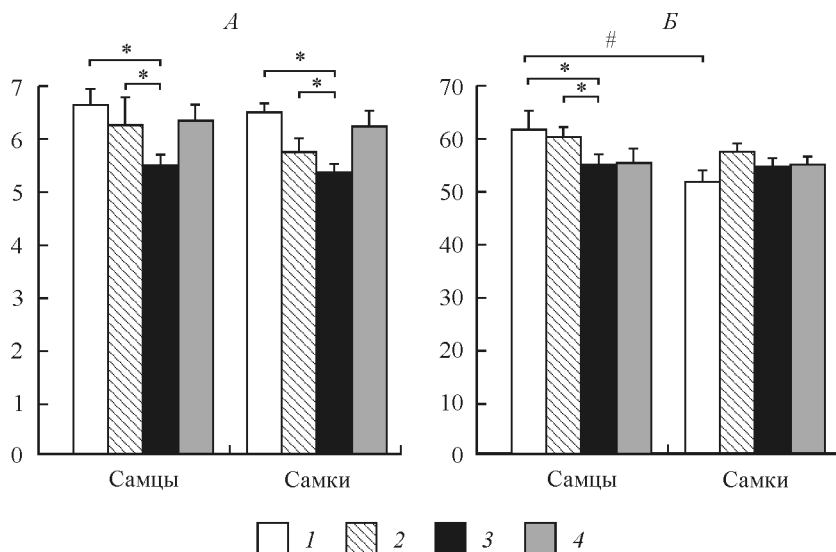


Рис. 1. Влияние инъекций флуоксетина, буспилона и физиологического раствора самкам крыс во время гестации на массу тела новорожденного потомства (А) и потомства в препубертатный период развития (Б).

По вертикали — масса тела, г. 1 — интактная группа, 2 — группа с пренатальным введением физиологического раствора, 3 — группа с пренатальным введением флуоксетина, 4 — группа с пренатальным введением буспилона, * $p < 0.05$; половые различия между крысами интактной группы, # $p < 0.05$.

Поведение беременных самок с инъекцией разных веществ нашло отражение в болевой чувствительности потомства в препубертатном возрасте. Так, в тесте горячей пластины обнаружено, что хроническая инъекция физиологического раствора беременной самке вызвала у потомства обоего пола достоверное уменьшение латентного периода ответа (усиление болевой чувствительности) на термический раздражитель у самцов ($p < 0.01$) и самок ($p < 0.05$) по сравнению с интактными крысами и крысами с пренатальным введением флуоксетина ($p < 0.05$ и $p < 0.01$ у самцов и самок соответственно) и буспилона ($p < 0.05$ у крыс обоего пола) (рис. 2). Таким образом, инвазивная процедура, вызванная инъекцией беременным крысам физиологического раствора, усилила, вероятно через ГГНС, болевой ответ в тесте горячей пластины у потомства обоего пола, тогда как оба препарата нивелировали влияние инвазивного вмешательства, что позволило выявить их антиноцицептивный эффект. В классическом формалиновом тесте обнаружено, что пренатальное введение флуоксетина и буспилона по сравнению с контролем достоверно не изменило показатели первой острой и второй тонической фаз воспалительного болевого ответа (число сгибаний+встряхиваний и продолжительность вылизывания) у крыс обоего пола (табл. 1). Направленность изменений ответов на воспалительный болевой раздражитель была сходной с направленностью изменений ответов в тесте горячей пластины.

В приподнятом крестообразном лабиринте пренатальное введение флуоксетина уменьшило время пребывания в открытых рукавах и число свешиваний с открытых рукавов у самок ($p < 0.05$ в обоих случаях) по сравнению с этими показателями у самок с пренатальным введением физиологического раствора и у интактных самок, но не изменило эти показатели у самцов, что указывает на усиление уровня тревожности у самок. Пренатальное введение

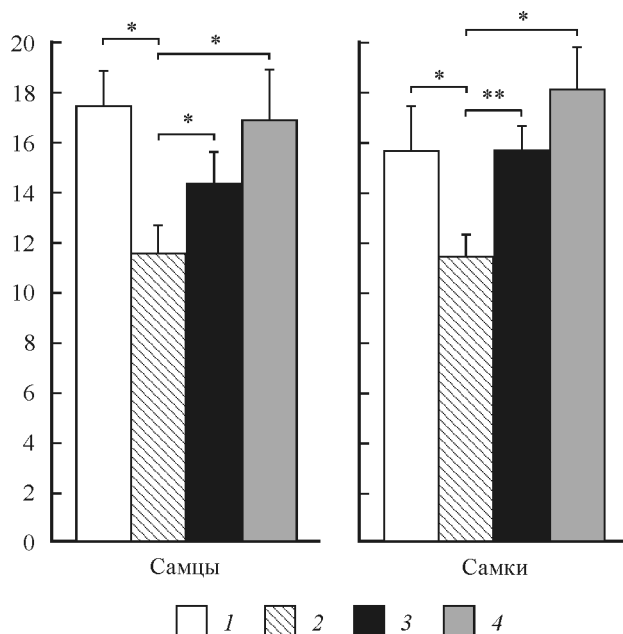


Рис. 2. Влияние инъекций флуоксетина, буприона и физиологического раствора самкам крыс во время гестации на латентный период в тесте горячая пластина у потомства в препубертатный период развития.

По вертикали — латентный период, с. 1 — интактная группа, 2 — группа с пренатальным введением физиологического раствора, 3 — группа с пренатальным введением флуоксетина, 4 — группа с пренатальным введением буприона, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

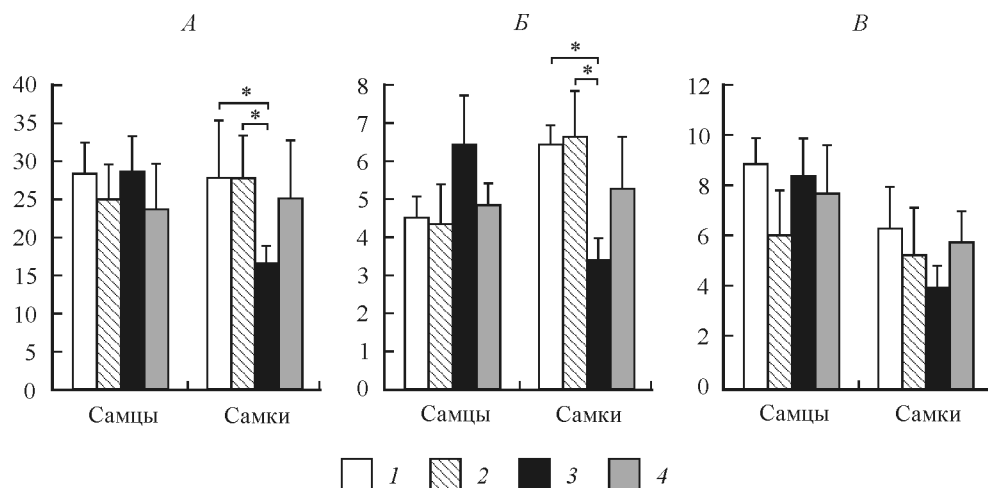


Рис. 3. Влияние инъекций флуоксетина, буприона и физиологического раствора самкам крыс во время гестации на время пребывания в открытых рукавах (А), число свешиваний (Б) и число пересеченных квадратов (В) у потомства в препубертатный период развития.

По вертикали — время в открытых рукавах, с, число свешиваний и число пересеченных квадратов. 1 — интактная группа, 2 — группа с пренатальным введением физиологического раствора, 3 — группа с пренатальным введением флуоксетина, 4 — группа с пренатальным введением буприона, * $p < 0.05$.

Таблица 1

Влияние инъекций физиологического раствора, флуоксетина и бупропиона самкам крыс во время гестации на воспалительный болевой ответ (число сгибаний+встряхиваний и продолжительность вылизывания) в первую (Ф 1) и во вторую (Ф 2) фазы формалинового теста у потомства в препубертатный период развития

Группы	Самцы				Самки			
	Сгибание+встряхивание		Вылизывание, с		Сгибание+встряхивание		Вылизывание, с	
	Ф1	Ф2	Ф1	Ф2	Ф1	Ф2	Ф1	Ф2
Интактная	50.5 ± 6.2	377.0 ± 31.6	38.2 ± 6.4	211.4 ± 22.9	58.2 ± 13.4	447.3 ± 61.7	25.1 ± 6.3	239.1 ± 32.5
Физиологический раствор	58.8 ± 7.7	449.2 ± 30.1	46.9 ± 5.3	294.5 ± 28.7	98.4 ± 14.7	481.4 ± 49.9	42.5 ± 9.1	265.1 ± 16.7
Флуоксетин	55.0 ± 7.2	405.5 ± 30.8	43.2 ± 8.0	254.5 ± 24.9	64.9 ± 6.8	440.6 ± 31.6	30.7 ± 5.1	236.7 ± 18.0
Бупропион	54.8 ± 10.3	366.7 ± 32.8	28.4 ± 3.8	298.5 ± 36.6	92.1 ± 15.1	429.6 ± 49.9	44.0 ± 6.2	249.1 ± 31.2

Таблица 2

Влияние инъекций физиологического раствора, флуоксетина и бупропиона самкам крыс во время гестации на время иммобильности, время плавания и продолжительность движения по стенке сосуда в тесте принудительного плавания у потомства в препубертатный период развития

Группы	Самцы				Самки			
	Время иммобильности, с	Время плавания, с	Продолжительность движения по стенке сосуда, с		Время иммобильности, с	Время плавания, с	Продолжительность движения по стенке сосуда, с	
			Ф1	Ф2			Ф1	Ф2
Интактная	81.9 ± 8.1	141.5 ± 12.2	77.2 ± 9.2	77.2 ± 9.2	73.2 ± 10.1	143.3 ± 9.7	83.4 ± 10.7	83.4 ± 10.7
Физиологический раствор	88.3 ± 14.4	126.3 ± 12.6	85.4 ± 12.6	85.4 ± 12.6	70.8 ± 7.8	131.1 ± 12.2	98.1 ± 16.7	98.1 ± 16.7
Флуоксетин	77.6 ± 11.3	150.6 ± 12.5	71.7 ± 8.8	71.7 ± 8.8	70.1 ± 7.3	158.8 ± 8.2	71.1 ± 6.5	71.1 ± 6.5
Бупропион	49.3 ± 10.0**	171.6 ± 8.8**	78.5 ± 7.2	78.5 ± 7.2	42.0 ± 10.2**	154.5 ± 9.4	103.2 ± 10.7	103.2 ± 10.7

Примечание. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ по сравнению с физиологическим раствором, † $p < 0.05$ по сравнению с интактной группой.

буспирона достоверно не изменило уровень тревожности как у самцов, так и у самок (рис. 3).

В тесте принудительного плавания пренатальное введение флуоксетина достоверно не изменило уровень выраженности депрессивноподобного поведения (время иммобильности) как у самцов, так и у самок (табл. 2). Пренатальное введение буспирона уменьшило время иммобильности как у самцов, так и у самок ($p < 0.05$ в обоих случаях) даже ниже величины этого показателя у интактных крыс и увеличило время плавания у самцов по сравнению с временем плавания у самцов с пренатальным введением физиологического раствора ($p < 0.01$), но достоверно не изменило продолжительность движений по стенке сосуда у крыс обоего пола и время плавания у самок (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные данные свидетельствуют о том, что хроническая инъекция флуоксетина и буспирона беременным самкам нивелировала влияние инвазивного вмешательства; это позволило обнаружить антиноцицептивный эффект препаратов у потомства препубертатного периода. Впервые обнаружено, что анксиолитическое свойство буспирона и антидепрессивное свойство флуоксетина, введенных во время гестации самкам, не проявились у потомства. Однако флуоксетин вызвал анксиогенный эффект в тесте приподнятого крестообразного лабиринта у женского потомства, но не повлиял на уровень тревожности у мужского потомства. Буспирон уменьшил уровень депрессивноподобного поведения в тесте принудительного плавания у потомства обоего пола, проявив антидепрессивный эффект.

У новорожденного потомства матерей с введением флуоксетина было обнаружено снижение массы тела по сравнению с массой тела контрольных и интактных крысят, что указывает на отклонение в развитии плода, подвергнутого в критический пренатальный период развития действию ингибитора обратного захвата 5-НТ. Наши результаты находят подтверждение в работах ряда авторов [8, 30], но не согласуются с данными других [21]. Также противоречивые результаты по влиянию флуоксетина на развитие плода представлены и в клинических исследованиях на человеке. Нами обнаружено, что в 25-дневном возрасте этот физиологический показатель у самок, но не самцов, уже не отличался от сравниваемой величины у интактных животных. В отличие от флуоксетина введение беременным самкам крыс буспирона не вызвало достоверного изменения в массе тела как у новорожденного, так и молодого потомства.

Наблюдаемые нами различия в поведении беременных самок крыс в ответ на инвазивные вмешательства — инъекции физиологического раствора и инъекции препаратов — нашли отражение и у потомства в тесте горячей пластины: в проноцицептивном эффекте первого по отношению к болевой чувствительности интактного потомства и в антиноцицептивном эффекте препаратов по отношению к болевой чувствительности контрольных крыс. Буспирон и флуоксетин, нивелировав влияние стрессорного инвазивного вмешательства у беременных самок, не изменили у потомства величину латентного периода ответа на термический раздражитель, характерную для потомства интактных крыс.

Результаты настоящего исследования, полученные на большем числе крыс с пренатальным введением флуоксетина, по сравнению с числом крыс с подобным введением этого препарата в предыдущей нашей работе, подтверждают полученные нами ранее результаты об антиноцицептивном пренатальном эффекте флуоксетина [1]; антиноцицептивный эффект буспирона в насто-

ящей работе выявлен впервые. Подобное различие в пренатальном влиянии флуоксетина и физиологического раствора было обнаружено на морских свинках [36]. В литературе сообщалось об ослаблении болевой чувствительности у крыс после перинатального введения флуоксетина [22].

Изменение уровня 5-НТ и плотности 5-НТ1А-рецепторов, вызванное флуоксетином и буспироном в раннем развитии [15, 20], может повлиять на стрессорный ответ в препубертатном периоде через изменение уровня кортикостерона в гиппокампе [32]. Серотонинергическая система и ГНС в процессе развития тесно взаимосвязаны [23]. Присутствие глюкокортикоидных рецепторов на нейронах в областях мозга, связанных с ноцицепцией, поддерживает представление о связи ГНС с болевой системой. Увеличение пренатального уровня кортикостерона может в дальнейшем развитии увеличить реактивность этой стрессорной системы и усилить болевой ответ. Эффективная обработка антидепрессантами приводит к нормализации ГНС.

Отсутствие достоверных различий в реактивности болевой системы в ответ на воспалительный агент у крыс препубертатного возраста, рожденных самками с введением препаратов по сравнению с введением физиологического раствора, подтверждают ранее полученные нами результаты на крысах других возрастных периодов развития с подобным пренатальным воздействием [10]. Вероятно, реакция ГНС самки в ответ на хроническую инъекцию физиологического раствора не была достаточной, для того чтобы вызвать фенотипические изменения у потомства в воспалительном болевом ответе, интегрированном на более высоком уровне в центральной нервной системе, по сравнению с уровнем ответа на термический раздражитель в тесте горячей пластины.

В настоящей работе впервые обнаружено, что антидепрессивное свойство флуоксетина и анксиолитическое свойство буспирона, препаратов, введенных в период гестации, не проявились у потомства в исследованных тестах. Клинические наблюдения также подтверждают, что эти препараты, введенные здоровым взрослым пациентам, не вызывают у них каких-либо физиологических или поведенческих отклонений. Введение буспирона беременным самкам вызвало сильный антидепрессивный эффект у потомства обоего пола. Следует обратить внимание на тот факт, что время иммобильности уменьшилось даже ниже величины этого показателя у потомства интактных матерей. Наряду с этим буспирон увеличил время плавания у самцов, но не изменил продолжительность движений по стенке сосуда у крыс обоего пола и время плавания у самок. Это может свидетельствовать о том, что мишенью действия буспирона у самцов является 5-НТ. Можно было бы предположить, что снижение времени иммобильности у потомства матерей с введением буспирона по сравнению с контролем могло быть вызвано влиянием буспирона на дофаминовые рецепторы, что приводит к увеличению скорости возбуждения дофаминовых нейронов среднего мозга и, как следствие, к увеличению двигательной активности. Однако в тесте приподнятого крестообразного лабиринта у этих крыс не было обнаружено увеличения числа пересеченных квадратов. Кроме того, доза буспирона, которую мы использовали, не оказывает, по данным литературы, влияния на дофаминовую систему [16]. Полученные нами результаты не позволяют объяснить антидепрессивный эффект буспирона активностью пре- или постсинаптических 5-НТ1А-рецепторов. Есть данные, указывающие на связь пресинаптических рецепторов этого типа с уровнем тревожности, а постсинаптических — с депрессией. Показано, что уменьшенная экспрессия пресинаптических 5-НТ1А-рецепторов была достаточной для того, чтобы вызвать антидепрессивный эффект у мышей [34].

Несмотря на значительный прогресс, достигнутый с открытием транскрипционных факторов, регулирующих экспрессию гена 5-НТ1А-рецептора и формирующих 5-НТ-клеточный фенотип, а также с использованием нокаутных мышей, роль пре- и постсинаптических 5-НТ1А-рецепторов в возникновении тревожного и депрессивного состояний окончательно не выяснена [4, 12].

Обнаруженный в наших экспериментах более высокий уровень тревожности, вызванный пренатальным влиянием флуоксетина у самок, чем у самцов, может быть вызван действием половых гормонов, которые в перинатальном периоде программируют долговременные половые различия не только в репродуктивном поведении, но и в поведении, не связанном с реализацией репродуктивной функции [6]. Увеличение уровня 5-НТ в развивающемся мозге, вызванное флуоксетином, нарушает развитие тесных взаимоотношений между 5-НТ-ергической системой и ГНС, изменяя неодинаково модулирующие влияния 5-НТ1А на ГНС у разнополых особей [18]. Кроме того, особенности развития у разнополых особей префронтальной коры, вовлеченной в психоэмоциональное поведение и богато оснащенной 5-НТ1А-рецепторами, уровень экспрессии которых изменяется в мозге новорожденных крысят под влиянием препаратов, воздействующих на серотонинергическую систему [24], могут внести вклад в различие во влиянии флуоксетина. Есть также данные о том, что у самцов по сравнению с самками имеет место более высокая экспрессия 5-НТ1А-рецепторов в дорсальном ядре шва и префронтальной коре, а у самок обнаружена более высокая экспрессия кортикотрилизинг фактора 2 рецептора в дорсальном ядре шва [39]. Наши данные, демонстрирующие повышенную тревожность у самок, но неизменность уровня депрессивноподобного поведения у крыс обоего пола, согласуются с результатами экспериментов с уменьшением уровня 5-НТ1А-ауторецепторов, которое приводит к долговременному увеличению тревожного поведения, не влияя на депрессивноподобное поведение [14]. Среди транскрипционных факторов, подавляющих экспрессию гена 5-НТ1А-рецептора в ядре шва, большое внимание уделяется [5] фактору Deaf-1 как мишени для увеличения серотонинергического тона благодаря способности этого фактора подавлять пресинаптическую экспрессию 5-НТ1А-рецептора и одновременно стимулировать постсинаптические 5-НТ1А-рецепторы. Повышенная тревожность в тесте приподнятого крестообразного лабиринта была обнаружена у нокаутных Deaf-1 самок, но не у самцов [26].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что флуоксетин и бупирон, введенные не стрессированным во время гестации самкам, не проявили у потомства препубертатного периода антидепрессивного и анксиолитического свойств соответственно. Однако флуоксетин проявил анксиогенный эффект в тесте приподнятого крестообразного лабиринта у женского потомства, а бупирон обнаружил свойства антидепрессанта в тесте принудительного плавания у потомства обоего пола. Выявлено антиноцицептивное влияние инъекционных препаратов в отличие от проноцицептивного влияния инъекции физиологического раствора в тесте горячей пластины. Обнаруженные особенности пренатального влияния антидепрессанта флуоксетина и анксиолитика бупирона указывают на важность использования в подобных исследованиях особей обоего пола и способствуют выяснению механизмов долговременного влияния препаратов на психоэмоциональное поведение и ноцицепцию.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта № 17-04-00214а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Буткевич И. П., Михайленко В. А. Пренатальное влияние флуоксетина на адаптивное поведение и когнитивную сферу у самцов крыс в препубертатный период развития. *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*. 103(7) : 744—754. 2017.
- [2] Михайленко В. А., Буткевич И. П., Астапова М. К. Долговременные влияния стрессорных воздействий в неонатальный период развития на ноцицептивную систему и психоэмоциональное поведение. *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*. 102(5) : 540—559. 2016.
- [3] Шишкина Г. Т., Дыгало Н. Н. Нейробиологические основы депрессивных расстройств и действия антидепрессантов. *Журн. высш. нервн. деят.* 60(2) : 138—152. 2010.
- [4] Albert P. R., François B. L. Modifying 5-HT_{1A} Receptor Gene Expression as a New Target for Antidepressant Therapy. *Front. Neurosci.* 4 : 35. 2010.
- [5] Albert P. R., Vahid-Ansan F., Luckhart C. Serotonin-prefrontal cortical circuitry in anxiety and depression phenotypes: pivotal role of pre- and post-synaptic 5-HT_{1A} receptor expression. *Front. Behav. Neurosci.* 8 : 199. 2014.
- [6] Arnold A. P. The organizational-activational hypothesis as the foundation for a unified theory of sexual differentiation of all mammalian tissues. *Horm. Behav.* 55(5) : 570—578. 2009.
- [7] Avitsur R. Prenatal fluoxetine modifies the behavioral and hormonal responses to stress in male mice: role for glucocorticoid insensitivity. *Behav. Pharmacol.* 28(5) : 345—355. 2017a.
- [8] Avitsur R. Increased symptoms of illness following prenatal stress: Can it be prevented by fluoxetine? *Behav. Brain Res.* 317 : 62—70. 2017b.
- [9] Brummelte S., Mc Glanaghy E., Bonnin A., Oberlander T. F. Developmental changes in serotonin signaling: Implications for early brain function, behavior and adaptation. *Neuroscience*. 342 : 212—231. 2017.
- [10] Butkevich I. P., Mikhailenko V. A., Vershinina E. A., Otellin V. A., Aloisi A. M. Buspiro- ne before prenatal stress protects against adverse effects of stress on emotional and inflammatory pain-related behaviors in infant rats: age and sex differences. *Brain Res.* 1419 : 76—84. 2011.
- [11] Butkevich I. P., Mikhailenko V. A., Bagaeva T. R., Vershinina E. A., Aloisi A. M., Otellin V. A. Inflammatory pain and corticosterone response in infant rats: effects of 5-HT_{1A} agonist buspiro- ne prior the gestational stress. *Mediators. Inflamm.* 2013 : 915189. doi: 10.1155/2013/915189.
- [12] Chilmoneczyk Z., Bojarski A. J., Pilc A., Sylte I. Functional selectivity and antidepressant activity of serotonin 1A receptor ligands. *Int. J. Mol. Sci.* 16. 2015. 188474—18506; doi: 10.3390/ijms160818474.
- [13] Colpaert F. C. 5-HT_{1A} receptor activation: new molecular and neuroadaptive mechanisms of pain relief. *Curr. Opin. Investig. Drugs.* 7(1) : 40—47. 2006.
- [14] Donaldson Z. R., Piel D. A., Santos T. L., Richardson-Jones J. W., Leonardo E. D., Beck S. G., Champagne F. A., Hen R. Developmental effects of serotonin 1A autoreceptors on anxiety and social behavior. *Neuropsychopharmacology.* 39 (2) : 291—302. 2014.
- [15] Gemmel M., Rayen I., Lotus T., van Donkelaar E., Steinbusch H. W., De Lacalle S., Kokras N., Dalla C., Pawluski J. L. Developmental fluoxetine and prenatal stress effects on serotonin, dopamine, and synaptophysin density in the PFC and hippocampus of offspring at weaning. *Dev. Psychobiol.* 58(3) : 315—327. 2016.
- [16] Gillespie R. A., Eriksen J., Hao H. L., Druse M. J. Effects of maternal ethanol consumption and buspiro- ne treatment on dopamine and norepinephrine reuptake sites and D1 receptors in offspring. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 21(3) : 452—459. 1997.
- [17] Glover M. E., Clinton S. M. Of rodents and humans: A comparative review of the neuro- behavioral effects of early life SSRI exposure in preclinical and clinical research. *Int. J. Dev. Neurosci.* 51 : 50—72. 2016.
- [18] Goel N., Innala L., Viau V. Sex differences in serotonin (5-HT) 1A receptor regulation of HPA Psychoendocrinology 40 : 232—241. 2014.
- [19] Hanley G. E., Oberlander T. F. The effect of perinatal exposures on the infant: antidepressants and depression. *Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 28(1) : 37—48. 2014.
- [20] Kim J.-A., Gillespie R. A., Druse M. J. Effects of maternal ethanol consumption and buspiro- ne treatment on 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors in offspring. *Alcoholism: Clin. Exper. Res.* 21(7) : 1169—1178. 1997.
- [21] Kiryanova V., McAllister B. B., Dyck R. H. Long-term outcomes of developmental expo- sure to fluoxetine: A review of the animal literature. *Dev. Neurosci.* 35(6) : 437—449. 2013.

[22] Knaepen L., Rayen I., Chartier T. D., Fillet M., Houbart V., van Kleef M., Steinbusch H. W., Patijn J., Tibboel D., Joosten E. A., Pawluski J. L. Developmental fluoxetine exposure normalizes the long-term effects of maternal stress on post-operative pain in Sprague-Dawley rat offspring. *PloS One*. 8(2) e57608. 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0057608.

[23] Lanfumey L., Mongeau R., Cohen-Salmon C., Hamon M. Corticosteroid-serotonin interactions in the neurobiological mechanisms of stress-related disorders. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 32(6) : 1174—1184. 2008.

[24] Lauder J. M., Grayson D. R. In utero exposure to serotonergic drugs alters neonatal expression of 5-HT(1A) receptor transcripts: a quantitative RT-PCR study. *Int. J. Dev. Neurosci.* 18(2—3) : 171—176. 2000.

[25] Lisboa S. F., Oliveira P. I., Costa L. C., Venancio E. J., Moreira E. G. Behavioral evaluation of male and female mice pups exposed to fluoxetine during pregnancy and lactation. *Pharmacology*. 80 (1) : 49—56. 2007.

[26] Luckhart C., Philippe T. J., François B. L., Vahid-Ansari F., Geddes S. D., Béique J.-C., Lagace D. C., Daigle M., Albert P. R. Sex-dependent adaptive changes in serotonin-1A autoreceptor function and anxiety in *Deaf1*-deficient mice. *Molecular Brain*. 9 : 77. 2016. doi:1186/s13041-016-0254-y

[27] Mahar I., Bambico F. R., Mechawar N. Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 38 : 173—192. 2014.

[28] Mcintyre R. S. The role of new antidepressants in clinical practice in Canada: a brief review of vortioxetine, levomilnacipran ER, and vilazodone. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 13 : 2913—2919. 2017. doi: 10.2147/NDT.S150589.

[29] Millard S. J., Weston-Green K., Newell K. A. The effects of maternal antidepressant use on offspring behaviour and brain development: Implications for risk of neurodevelopmental disorders. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 80 : 743—765. 2017.

[30] Oliver J. D. A., Valles A., van Heesch E., Afrasiab-Middelmann A., Roelofs J. J. P. M., Jonkers M., Peeters E. J., Korte-Bouws G. A., Dederen J. P., Kiliaan A. J., Martens G. J., Schuberth D., Homberg J. R. Fluoxetine administration to pregnant rats has long-term consequences for the offspring. *Psychopharmacology (Berl.)* 217 : 419—432. 2011.

[31] Patel T. D., Zhou F. C. Ontogeny of 5-HT1A receptor expression in the developing hippocampus. *Devel. Brain Res.* 157 : 42—57. 2005.

[32] Pawluski J. L., Rayen I., Niessen N. A., Kristensen S., Van Donkelaar E. L., Balthazart J., Steinbusch H. W., Chartier T. D. Developmental fluoxetine exposure differentially alters central and peripheral measures of the HPA system in adolescent male and female offspring. *Neuroscience*. 220 : 131—141. 2012.

[33] Popova N. K., Naumenko V. S. 5-HT1A receptor as a key player in the brain 5-HT system. *Rev. Neurosci.* 24(2) : 191—204. 2013.

[34] Richardson-Jones J. W., Craige C. P., Guiard B. P., Stephen A., Metzger K. L., Kung H. F., Gardier A. M., Dranovsky A., David D. J., Beck S. G., Hen R., Leonardo E. D. 5-HT1A autoreceptor levels determine vulnerability to stress and response to antidepressants. *Neuron*. 65(1) : 40—52. 2010.

[35] Vahid-Ansari F., Daigle M., Manzini M. C., Tanaka K. F., Hen R., Geddes S. D., Béique J. C., James J., Merali Z., Albert P. R. Abrogated *Freud-1/Cc2d1a* repression of 5-HT1A autoreceptors induces fluoxetine-resistant anxiety/depression-like behavior. *J. Neurosci.* 37(49) : 11 967—11 978. 2017.

[36] Vartazarmian R., Malik S., Baker G. B., Boksa P. Long-term effects of fluoxetine or vehicle administration during pregnancy on behavioral outcomes in guinea pig offspring. *Psychopharmacology (Berl.)*. 178 : 328—338. 2005.

[37] Yohn C. N., Gerques M. M., Samuels B. A. The role of 5-HT receptors in depression. *Mol. Brain*. 10(1) : 28. 2017.

[38] Zimmerman M. Committee for Research and Ethical Issues of the IASP. Ethical standards for investigations of experimental pain in animals. *Pain*. 16 : 109—110. 1983.

[39] Zohar I., Dosoretz-Abittan L., Shoham S., Weinstock M. Sex dependent reduction by prenatal stress of the expression of 5HT1A receptors in the prefrontal cortex and CRF type 2 receptors in the raphe nucleus in rats: reversal by citalopram. *Psychopharmacology*. 232(9) : 1643—1653. 2015.